

# O-Aminophenol Azo-Tuberculin Derivative

## の薬理學的研究

金澤大學結核研究所薬理製劑部 主任教授 岡本 肇

藤 田 繁 松

(受付昭和24年9月14日)

Shigematsu FUJITA : Pharmacological Studies of o-Aminophenol Azo-Tuberculin Derivative.

昭和18年(1943)岡本教授<sup>1)</sup>によつて o-Aminophenol が結核菌に對し強大なる抗菌作用を發揮する物質である事が實證せられてから此處に7年、此の間 o-Aminophenol を中心とする諸他誘導體の抗結核菌性如何の問題に對し絶えず追究の歩が進められて來たのであるが、其の一環をなす o-Aminophenol Azo- 蛋白誘導體を指向した檢索分野に於て、1947年伊藤・越村兩助教授<sup>2)</sup>は先づ蛋白體は總て之に對し o-Aminophenol の Diazonium Chloride による Coupling を行ふときは溶血性を獲得し而も此の場合 o-Aminophenol Azo- 蛋白の呈する溶血力は azo-化程度の増大に伴ひ強大となり遂に最大值を示すに至ると云ふ事象を發見し、次で azo- 化の對象として精製ツベルクリンを選ぶ時は茲に得られる o-Aminophenol Azo-Tuberculin では結核海狸に對する皮膚反應性が依然強力に保有せられているに拘らず、致死毒性が極度に減殺せられていることを實證し、茲に新たな展開の基を築いたのである。即ち同氏等は敘上の二新事實を基礎に更に考查研究を進めて遂に人型結核菌の Sauton- 培養液に對し直接 o-Aminophenol Diazonium Chloride を注加作用せしめて o-Aminophenol Azo-Tuberculin を殆ど純粹状態に而も極めて好收量に分離する方法の確立に成功したのであつて、茲に得られた o-Aminophenol Azo-Tuberculin をして行はれた柿下教授等<sup>3)</sup>の人體實驗に於ては早くも

a) 成人では o-Aminophenol Azo-Tuberculin 0.000, 05mg. は標準舊ツベルクリン  $\frac{1}{2}, 000$  液 0.1cc. (=0.05 “mg.”) と皮膚反應惹起力に於て同等、而も o-Aminophenol Azo-Tuberculin は P.P.D. (Seibert) \* と効力に於て同等か或は優る處がある事、

b) 學童 (B.C.G. 未接種者) にあつては標準舊ツベルクリン 0.05 “mg.” 陽性者には o-Aminophenol Azo-Tuberculin 0.000, 05mg. でも陽性; 舊ツベルクリン陰性者は o-Aminophenol Azo-Tuberculin にも陰性、

c) ツベルクリン反應陰性 B.C.G. 接種學童では (i) 舊ツベルクリン 0.05 “mg.” で陽性反應を呈したものは o-Aminophenol Azo-Tuberculin 0.000, 05mg. に對し全然陽性の態度を示す。 (ii) B.C.G. 接種者の中で舊ツベルクリン 0.05 “mg.” 及び o-Aminophenol Azo-Tuberculin 0.000, 05mg. の兩者に對して陽性反應を呈した少數例學童では精密檢診で何れも結核感染が證明せられた。

と云ふ重要知見が得られ、茲に o-Aminophenol Azo-Tuberculin は自然感染に對するツベルクリン反應檢出上、將又自然感染と B.C.G. 感染との鑑別並に B.C.G. 感染後に於ける自然感染の時

\* =P.P.D. (Seibert) はアメリカ研究者の好意によつて分譲せられたもの。

期を探知する上に其の効用價値の甚だ大なるものがあるとせられるに至つたのである。

從つて目下本研究所では o-Aminophenol Azo-Tuberculin の生物學的性狀<sup>9)</sup>に關して凡ゆる方面からの吟味検討が行はれているのであるが、私は o-Aminophenol Azo-Tuberculin の一般藥理學的性狀に關する研究部面を擔當したので、以下今日迄確定し得た成績を報告せんとするものである。

## 試 驗 物 質

o-Aminophenol Azo-Tuberculin Derivative (以下 O.A.-Azo-T. と略記) の外に尙考査上の便宜に資すべく舊ツベルクリン (OT. と略記) 並に 'Sauton's Synthetic-Medium Old Tuberculin (SOT. と略記) を以ての實驗をも行つた。

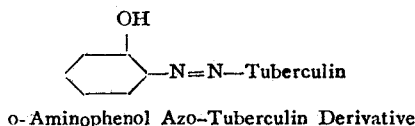
之等試料に就て註記すべきことは次の如くである。

1) OT. ……………人型結核菌  $H_2$  株のグリセリンブイヨン培養を型の如く處理して  $\frac{1}{10}$  量に濃縮したもの(原液)

2) SOT. ……………人型結核菌  $H_2$  株のソー-ton培養液に對し OT. 調製と同様の處置を施して  $\frac{1}{10}$  量に濃縮したもの(原液)

3) O.A.-Azo-T. ……………人型結核菌  $H_2$  株の10週間ソー-ton培養液から伊藤・越村の方法によつて分離せられた褐赤色無晶形の粉末であつて、本物質は化學的には殆ど最高度に迄純化せられているツベルクリン活性因子の o-Aminophenol 誘導體である。而して人體に於けるツベルクリン反應 (Mantoux) 試験で、其の 0.000,05mg. が標準舊ツベルクリン  $\frac{1}{2,000}$  液 0.1cc. と同効であることが實證せられたものである。

ツベルクリン皮膚反應惹起力では O.A.-Azo-T. 0.000,05mg. = OT.  $\frac{1}{2,000}$  液 0.1cc. (=0.05 "mg".) の關係があるとして計算すると OT. 1cc. には 0.001mg. のツベルクリン活性因子が含まれていることとなり、從つて假に重量基準からの比較をするとすれば O.A.-Azo-T. 1:1,000 液 = OT. 或は SOT. 自體との關係で成績の對比が考慮し得ない事もない譯であるが、後述の如く茲には元來比較し得ないものを比較すると云ふ無理がある事から、私は以下實驗成績の記載に當つては OT. 並に SOT. の場合には容量基準の濃度を與へ、O.A.-Azo-T. に就ては重量基準の濃度を記載する事としたのである。



而して O.A.-Azo-T. にあつては實驗の都度其の 10mg. を 1~2 滴の N/10 NaOH を加へて生理的食鹽水、1.0cc. に溶解せるものを原液 (1:100, pH=7.8) とし必要に應じて更に食鹽水を以て所要濃度に稀釋した。

OT. 並に SOT. にあつても亦之が稀釋は食鹽水を以て行つたのであるが、茲に銘記すべきは一方に於ては SOT. 及び OT. では原試料の容量を基準にして稀釋液が調製せられたに對し、O.A.-Azo-T. では重量を基準として溶液調製が行はれている事と、又他方に於ては O.A.-Azo-T. はツベルクリン活性因子自體ではなく其の o-Aminophenol 誘導體であるに對し、SOT. 或は OT. にはツベルクリン活性因子は勿論存在するが尙之以外に多糖類等の菌代謝產物、それに培養液自體の成分も含まれている爲其の呈する生理作用が必ずしもツベルクリン活性因子によるものとなし得ないと云ふ複雑な關係もあつて O.A.-Azo-T. に於ける實驗成績と SOT. 或は OT. を以ての實驗成績とは直接比較考査し得ないと云ふ事情のあることである。

## 實 驗 の 部

### A. Paramecium に對する作用

Paramecium の4日間培養液の被膜より水道水を以て其の1滴中に原蟲7~8匹を含有する懸濁液を調製する。deck-glass上に前記懸濁液1滴と水道水を以て一定濃度に稀釋せる被檢物質の溶液1滴とを加へ、白金線を以て兩者を充分混和したる後、之をHole object-glassの凹面上に持ち來り、被蓋密封してから顯微鏡を以てParameciumの運動狀態を逐時的に觀察した。試験物質の溶液の代りに水道水1滴を加へたるものを對照とした。

第1表呈示の如くO.A.-Azo-T.では1:100液の作用でParameciumは4分間で已に死滅し、1:2,000~1:5,000液に至つても尙24時間生存し得るに過ぎず、其の對Paramecium作用は對照として使用したPhenolのそれよりも稍強いと云ふ成績である。

而してOT.とSOT.とは作用力の關係が大體同一であつて、原液の作用がO.A.-Azo-T.の1:100液程度のものに相當していることが見られる。

第1表 Paramecium に對する毒性比較  
(運動停止を來し死滅する迄の時間)

物 質 稀釋倍數 (重量基準)	O.A.-Azo-T.	Phenol	ツベル クリン 稀釋倍數 (原液基準)	OT.	SOT.
(原 液)	•	•	“原 液”	< 2'	< 3'
1 : 10	•	•	“1 : 10”	3°30'	24°
1 : 100	4'	< 2'	“1 : 100”	> 24°	> 24°
1 : 500	20'	1°50'	“1 : 500”	> 24°	> 24°
1 : 1,000	1°50'	24°	“1 : 1,000”	> 24°	> 24°
1 : 2,000	23°	> 24°	“1 : 2,000”	> 24°	> 24°
1 : 5,000	> 24°	•	“1 : 5,000”	•	•
1 : 10,000	> 24°	•	“1 : 10,000”	•	•
1 : 20,000	> 24°	•	“1 : 20,000”	•	•
1 : 50,000	> 24°	•	“1 : 50,000”	•	•
對 照	> 24°	> 24°	對 照	> 24°	> 24°

>24°=24時間後尙依然として活潑なる運動を営む場合。

## B. 溶 血 試 験

O.A.-Azo-T.が溶血性を具有することに就ては已に伊藤・越村によつて、家兎血球を對象として實證せられた處であるが<sup>9)</sup>、私は家兎赤血球の外に人及び海猿赤血球を使用してO.A.-Azo-T.の溶血作用を検した。

即ち家兎赤血球たると人或は海猿赤血球たるとを問はず、其の何れに對してもO.A.-Azo-T.は同様の溶血効果〔溶血限界濃度=1:20,000~1:50,000〕を示すものである事が知られる。(第2表)

第 2 表

O.A.-Azo-T.の過下稀釋液各1cc.に對し、1%赤血球浮游液(4回0.85%食鹽水を以て洗滌)1cc.宛加へ、37°C 孵卵器中に納め30<sup>m</sup>, 1<sup>h</sup>, 2<sup>h</sup>及び3<sup>h</sup>目毎に成績を判讀し、後更に21<sup>h</sup>永室に靜置せしめた時の結果を記入す。卅=完全溶血, 卅=殆ど完全溶血, 卅=相當不溶血球を残すもの, +=僅かに溶血, -=非溶血。

赤血球	O.A.-Azo-T. の 稀 釋 倍 數		作用時間							對 照
			500 *	1,000	2,000	5,000	10,000	20,000	50,000	
人	30 <sup>m</sup>		冊	冊	冊	冊	—	—	—	—
	1 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	—	—	—	—
	2 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	3 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	24 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
家 兔	30 <sup>m</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	2 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	3 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	24 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
海 豚	30 <sup>m</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	1 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	2 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	3 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊
	24 <sup>h</sup>		冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊	冊

\* = O.A.-Azo-T. 1:500 食鹽水溶液の pH は 7.0

### C. 一般中毒現象並に致死量

#### 第3表 Maus に対する O.A.-Azo-T. の毒性試験

體重 16~19g. の白色 maus を選び, O.A.-Azo-T. の生理的食鹽水溶液の一定量を腹腔内に注射す.

實驗例	maus の體重及び性別	O.A.-Azo-T. の濃度 (%)	注射量 (cc.)	排尿の Azo-色素調	結 果	剖 検 所 見
I	17g. ♂	1.0	2.0cc. (20mg.)	10分以内	死(4) *	肝臓, 脾臓並に肺臓は貧血状態, 心臓内に血液殆どなし 腹腔内は血性滲出液 ** で充満 腸管, 腹膜は黄染
	16g. ♀	1.0	1.5cc. (15mg.)	同 上	死(4)	
	16g. ♂	1.0	1.0cc. (10mg.)	同 上	死(3)	
	16g. ♀	1.0	1.0cc. (10mg.)	同 上	死(5)	
	16g. ♂	1.0	0.5cc. (5mg.)	同 上	撲殺 (5日目)	腸管, 腹膜が淡黄色となっているのみ
II	19g. ♂	1.0	1.0cc. (10mg.)	10分以内	死(5)	肝臓, 脾臓並に肺臓は外觀正常 腹腔内に血性滲出液 ** を認む 腸管, 腹膜は黄染
	19g. ♂	1.0	0.5cc. (5mg.)	15分以内	死(11)	
	18g. ♀	1.0	0.5cc. (5mg.)	20分以内	死(4)	
	17g. ♀	1.0	0.1cc. (1mg.)	認めず	生 存	
	18g. ♂	0.1	0.1cc. (0.1mg.)	認めず	生 存	
III	18g. ♂	1.0	0.5cc. (5mg.)	10分以内	死(5)	實驗 II に同じ
	16g. ♂	0.2	0.5cc. (1mg.)	認めず	生 存	
	18g. ♂	0.1	0.5cc. (0.5mg.)	認めず	生 存	
IV	17g. ♂	0.4	0.5cc. (2mg.)	20分以内	生 存	
	17g. ♂	0.4	0.5cc. (2mg.)	15分以内	生 存	
	17g. ♂	0.2	0.5cc. (1mg.)	認めず	生 存	
V	18g. ♂	1.0	0.5cc. (5mg.)	10分以内	生 存	實驗 II に同じ
	16g. ♂	1.0	0.5cc. (5mg.)	同 上	死(4)	

\* = 死(4)とは注射4日後に死亡した事を意味す.    \*\* = 腹腔滲出液は染色, 培養共に細菌陰性.

O.A.-Azo-T. の腹腔内注射實驗に於て知り得た處は第3表によつて見られる如く

1) 腹腔内注射に於ける O.A.-Azo-T. の maus (體重 16~19g.) に對する最少致死量 \* は大體 5mg. である事

2) 5mg. 以上の注射では maus は注射後已に20分以内に azo- 色素様の色調を有する尿を排泄するも全身状態には殆ど異状を示さず、而も數日(3~11日)を経て斃死するに至る事

3) 斃死した maus の腹腔内には多量の血性滲出液の存在が認められた事等であつた。

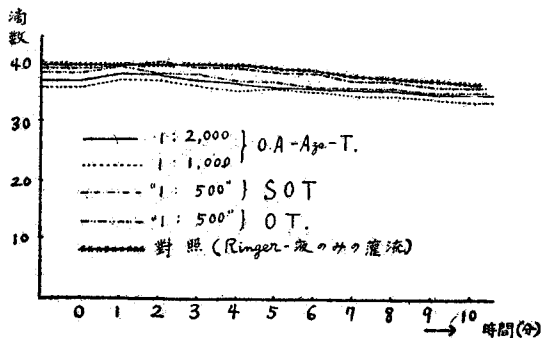
即ち此の成績から吾々は O.A.-Azo-T. の毒作用が極めて徐々に現はれるものであることを知り得るのであるが (Delayed Effect), 其の死因に就ては、或は之が O.A.-Azo-T. 自體の有する毒作用に基づくものか或は O.A.-Azo-T. によつて起る生體內溶血現象の二次的影響によるものかは速断し難く更に詳細な検討を要する處である。

#### D. 血管灌流試驗

##### 1. 蛙後肢血管灌流試驗

青蛙 (♀, 50~55g) の後肢血管を Loewen-Trendelenburg- 法に従ひ水壓 15cm. のもとに Ringer- 液 (NaCl 0.65%, CaCl<sub>2</sub> 0.02%, KCl 0.02%, NaHCO<sub>3</sub> 0.01%) を以て灌流せしめる。而して被檢物質の一定濃度液 (所要濃度に Ringer- 液で稀釋) 1cc. をカニューレの直上に接續せるゴム管内に注入作用せしめ滴數測定装置によつて灌流液量の變化狀況を觀察す。

第1圖 蛙後肢血管灌流試驗



第1圖にある如く、O.A.-Azo-T.

1:1,000~1:2,000 液, SOT. "1:500" 液及び OT. "1:500" 液の何れを以ての實驗に於ても單に Ringer- 液のみの灌流を行つた對照試驗の場合と同様灌流液量には殆ど何等の變化をも來さないと云ふ結果であつた。

##### 2. 海猿血管灌流試驗 \*\*

海猿 (450g. 前後) の後肢血管を Rabbiosi-

法<sup>9)</sup>に従ひ水壓 20cm. のもとに Ringer-Locke- 液 (NaCl 0.95%, KCl 0.02%, CaCl<sub>2</sub> 0.02%, NaHCO<sub>3</sub> 0.01%, Glucose 0.1%) を以て灌流せしめ、之に被檢物質を (Ringer- Locke- 液を以て所要濃度に溶解したもの) 1cc. を注射作用せしめた。

##### i) 健常海猿血管標本に於ける實驗

第2圖に示す如く、此の場合に於ても亦 O.A.-Azo-T. 1:500~1:1,000 液の作用は何等影響を

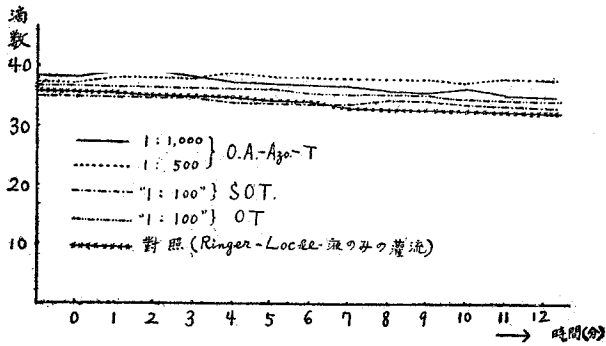
\* =Smith<sup>7)</sup>が所謂 Tuberculo-protein を家兔靜脈内に注射した實驗では健常家兔に對し 35mg./kg. が最少致死量であるとの結果が得られている。

\*\* =Koch's Old Tuberculin, 無蛋白ツベルクリン及び所謂 Tuberculo-protein 等の血管に對する作用に就ては諸家の研究<sup>7)-12)</sup>があるが、之等の報告を通覽するに或は收縮的であるとし<sup>10)</sup>又擴張的であるとし、

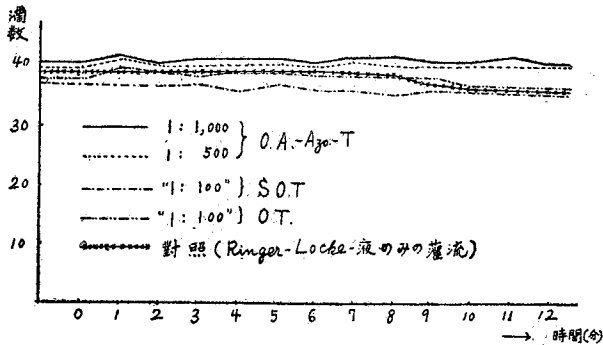
<sup>11)</sup> <sup>12)</sup> 更に亦正常動物と結核動物との間に差異が見られないとするもの、<sup>11)</sup> <sup>12)</sup> 又差異ありとするもの、<sup>8)</sup>

<sup>9)</sup> 或は其の何れに對しても目立つた作用なしとするもの<sup>7)</sup>等甚だしく成績の一致を缺いているのである。

第2圖 健常海狼血管標本に於ける實驗



第3圖 結核海狼血管標本に於ける實驗



示さず、SOT. 並に OT. にあつても其の“1:100”液は全く無作用であるとの結果であつた。

ii) 實驗的結核海狼血管標本に於ける實驗

人型結核菌  $H_2$ -株 1mg. を左側大腿内側面皮下に接種してから57~61日を経過した海狼(解検所見: 所屬淋巴腺の腫張並に潰瘍, 脾臓, 肝臓に結節の形成あり)の後肢血管を前記同様に灌流試験に附す。

第3圖に示す如く、實驗的結核海狼の後肢血管を對象とした場合に於ても亦健常海狼血管の試験に於けると同様、O.A.-Azo-T., SOT. 並に OT. は何等顯著な影響性を示さないことを知つた。

#### E. 摘出蛙心に對する作用 \*\*\*

Straub-Fühner- 法によつて温室内に懸垂せしめた青蛙(40g. 前後, ♂♀共)の摘出心臓に就て O.A.-Azo-T., SOT. 及び OT. の影響關係を觀察した。(室温 20°~25°C)

第4表 A は O.A.-Azo-T. 作用の成績であるが、茲 O.A.-Azo-T. は1:5,000~1:10,000 液に於ては單に振幅の縮小を招來せしめるのみに過ぎないが更に濃厚液となると其の麻痺作用が心室のみに限らず刺戟發生竇部にも及ぶに至ることが見られる。(何れの場合に於ても Ringer- 液を以てカニューレ内液を置換洗滌することにより心運動は漸次正規の状態に恢復した)。

第4表 A. 摘出蛙心に對する O.A.-Azo-T. の作用

所見 稀釋倍數 (重量基準)	振 幅	搏 數
1 : 20,000	變化なし	變化なし
1 : 10,000	僅かに振幅縮小の徴を認む	變化なし
1 : 5,000	藥液作用直後より漸進的に縮小す	殆ど變化なし
1 : 2,000	藥液作用の直後より急激に著しく縮小し漸次心調律の不整(交互脈型又は半調律型)を來すと共に竇刺戟發生も亦幾分障礙せられる	心室性不整脈の發生に伴ひ、竇調律も亦輕度に緩徐となる。
1 : 1,000		

\*\*\* = OT. の蛙心に對する作用に就ては Maki, <sup>13)</sup> 若佐 <sup>12)</sup> 及び Kumagai <sup>14)</sup> の研究があるが、何れを見ても藥理學的作用と見做し得るやうな顯著な成績は得られていない。

他方 SOT., OT. の兩者にあつては第4表 B に示す如く, “1:500~1:1,000” 液は輕微の振幅縮小を來さしめ, 作用濃度の大となるに従つて麻痺的作用が著しくなると云ふ成績である. 兎に角此の實驗によつて O.A.-Azo-T. は摘出蛙心に對し麻痺的作用を及ぼす處があるが, 其の程度は高々振幅縮小限界濃度=1:10,000 に過ぎないものであることを知り得るのである.

第4表 B. 摘出蛙心に對する O.T. 並に SOT. の作用

ツク ベリ ルン	所. 見 稀釋倍數 (原液基準)	振 幅	博 數
OT	“1 : 2,000”	變化なし	變化なし
	“1 : 1,000”	微に振幅縮小の徴を認む	變化なし
	“1 : 500”	僅かに縮小するのみ	變化なし
	“1 : 100”	藥液作用直後より徐々に振幅の縮小を來す	變化なし
SOT.	“1 : 2,000”		
	“1 : 1,000”	變化なし	變化なし
	“1 : 500”	微に振幅縮小の徴を認む	變化なし
	“1 : 100”	振幅は藥液作用直後より輕度の縮小を來すのみ, 振幅の増大を見たものがない	變化なし

## F. 摘出海豚腸管に於ける實驗

### 1. 健常摘出海豚腸管に及ぼす影響

1) 體重 300~400g. の海豚(♂)を撲殺, 其の大腸片を Schultz-Dale 法に従ひ營養液 (Tyrode-液) 槽中に懸垂し其の運動を描記せしめた. 液槽内の營養液は毎常 10cc. なるが如くに採り, 之に絶えず酸素を通ぜしめ且つ其の液温を 39°C に保持せしめた. 而して腸運動の大體恒定するを待つて, 一定濃度の被檢物質溶液 (注加前に之を 39°C に加温) 0.1cc. を前記の營養液槽内に注加した. (即ち被檢物質の溶液は液槽内に於て更に 100 倍に稀釋せられて作用することになる).

2) 被檢物質の原液より Tyrode-液 (NaCl 0.8%, KCl 0.02%,  $\text{CaCl}_2$  0.02%,  $\text{NaHCO}_3$  0.1%,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  0.005%,  $\text{MgCl}_2$  0.01%, Glucose 0.1%) を以て所要濃度液を調製した.

3) 腸管作用に關しては O.A.-Azo-T., OT. 及び SOT. の外に尚 Glycerinbouillon (即ち結核菌培養を行はなぬ原培地) の  $\frac{1}{10}$  濃縮液の作用關係をも觀察することとした.

#### i) O.A.-Azo-T. の作用

第5表 A に示す如く, 正常の蠕動運動を營める大腸に對し O.A.-Azo-T. の 1:200,000~1:500,000 液は何等認むべき異常を惹起しないが, 1:100,000 液の作用によつて極輕度の緊張低下を來すを見た. 而して 1:50,000 液の作用では緊張の低下と同時に蠕動運動の弱화가招來せられ, 1:10,000 の濃度に於ては藥液作用の直後より腸管は急激に弛緩し始め, 同時に蠕動運動も亦殆ど完全に停止するに至るを認めた. 而して何れの場合に於ても O.A.-Azo-T. に因る此の腸管機能の障礙は正常 Tyrode-液 を以て置換洗滌することによつて再び正常状態に復歸した.

#### ii) OT., SOT. 並に「Glycerinbouillon $\frac{1}{10}$ 濃縮液」の作用

第5表 B に示す如く, OT. SOT., 「Glycerinbouillon  $\frac{1}{10}$  濃縮液」の3者では其の正常摘出海豚腸管に對する作用關係は何れも緊張亢進を來さしめる點に於て一致する處があり, 其の間只作

用力の僅かな差異が認められるに過ぎないと云ふ成績であつた。

第5表 A. 健常摘出海豚腸管に及ぼす O.A.-Azo-T. の影響

稀 釋 培 數	所 見
1 : 500,000	異狀を認めず
1 : 200,000	
1 : 100,000	輕微の緊張低下を來すのみ
1 : 50,000	緊張低下と同時に蠕動運動も弱化する
1 : 10,000	腸管の急激なる緊張低下と共に蠕動運動も亦停止するに至る

第5表 B. 健常摘出海豚腸管に及ぼす OT., SOT. 並に「Glycerinbouillon  $\frac{1}{10}$  濃縮液」の影響

稀釋倍數 被 檢 液	“1 : 10,000”	“1 : 1,000”	“1 : 100”
Glycerinbouillon $\frac{1}{10}$ 濃縮液	何等認むべき影響なし	輕度の緊張上昇	作用直後より蠕動運動増大し緊張亦上昇す
OT.	極輕微の緊張上昇	藥液作用直後腸管は急激なる緊張上昇を示し、以後同様の緊張を保持しつつ蠕動運動をなす	作用直後より急激に緊張上昇し、蠕動運動も亦増大す
SOT.	極輕微の緊張上昇	作用直後一瞬緊張低下の兆を示してから緊張上昇に移行す	・

## 2. 實驗的結核海豚の摘出腸管に及ぼす影響

イ) 實驗動物 : 健常海豚に於ける實驗の如く體重 300~400g. (♂) のものを選用了。

ロ) 菌株並に菌浮游液の調製 : 人型結核菌 H<sub>2</sub>- 株を Glycerinbouillon に移植, 3~4 週間培養し其の菌膜の可及的幼若なる部分を取り濾紙を以て充分に水分を除去したる後、之より正確に 10mg. を秤取する。次で消毒せる玻璃製乳鉢内に於て此の菌塊を——滅菌生理的食鹽水の少量宛を滴下せしめつつ——充分に研磨破砕し、最後に食鹽水を以て全量を 10cc. とした。即ち本菌浮游液 1cc. は結核菌 1mg. を含有する。

ハ) 感染方法 : 8 頭の実験に對し夫々前記菌浮游液の 1cc. 宛を左側大腿内側面皮下に注射す。

ニ) 腸管實驗 : 菌接種を行つてから腸管實驗を行ふ迄の期間は最短 16 日, 最長 44 日目であつて (接種後 16 日の海豚では單に所屬淋巴腺の腫脹が認められたに過ぎないが、25 日以後のものでは尙脾臓に結節形成が認められ、44 日目ものでは脾臓は素より肝臓にも結節が認められた), 此の期間中に於て夫々の試験施行の日に結核海豚 1 頭宛撲殺し其の大腸片に就て前記健常海豚に於けると同様の實驗方法の適用のもとに O.A.-Azo-T., OT., SOT. 並に「Glycerinbouillon  $\frac{1}{10}$  濃縮液」の影響を検した。

### i) 結核海豚腸管に對する O.A.-Azo-T. の作用

第 6 表 A に依つて明かな如く、實驗的結核海豚腸管に對する O.A.-Azo-T. の作用關係は正常海豚腸管に對する O.A.-Azo-T. の作用關係と全く同様であつて兩者の間に何等差異點を認めることが出来なかつた。

### ii) 結核海豚腸管に對する OT. SOT. 並に「Glycerinbouillon $\frac{1}{10}$ 濃縮液」の作用

OT. SOT. 及び「Glycerinbouillon  $\frac{1}{10}$  濃縮液」の結核海豚腸管に對する影響に關する比較實驗の成績は亦、6 表 B に示す如く、正常海豚腸管に於ける實驗成績の場合と殆ど同様であると云ふ結果が得られた。



第6表 A. 結核海狸摘出腸管に及ぼす O.A.-Azo-T. の影響

稀 釋 倍 數	所 見
1 : 20,000	異狀を認めず
1 : 100,000	輕微の緊張低下を來すのみ
1 : 50,000	緊張低下と共に蠕動運動も弱化する
1 : 20,000	腸管の急激なる緊張低下と同時に蠕動運動は著しく微弱化する
1 : 10,000	

第6表 B. 結核海狸摘出腸管に及ぼす OT., SOT. 並に「Glycerinbouillon  $\frac{1}{10}$  濃縮液」の影響

稀釋倍數 被 檢 液	“1 : 10,000”	“1 : 1,000”
Glycerinbouillon $\frac{1}{10}$ 濃縮液	殆ど認むべき影響なし	輕度の緊張上昇
OT.	極輕度の緊張上昇	藥液作用直後腸管は一時急激なる緊張上昇を來し、以後同様の緊張を保持しつつ蠕動運動をなす
SOT.	・	極輕度の緊張上昇

今以上の實驗成績を總括すると第7表の如くなるのであるが、茲に特に注目すべき事は

- 1) O.A.-Azo-T. の健常海狸腸管に對する作用が麻痺的であるに對し、OT., SOT. の兩ツベルクリン液並に單なる「Glycerinbouillon  $\frac{1}{10}$  濃縮液」が何れも機能亢進 (OT. は其の作用力に於て、SOT., 「Glycerinbouillon  $\frac{1}{10}$  濃縮液」よりも稍々強いと云ふ差異があるのみ) の影響を呈する事
- 2) 結核海狸腸管に對する作用關係は亦健常海狸腸管に於けると全く同様である事の二事實である。

第 7 表

	A 健常海狸腸管	B 結核海狸腸管	A, B 間に於ける作用關係の異同
O.A.-Azo-T.	麻 痺 的	麻 痺 的	同 様
Glycerinbouillon $\frac{1}{10}$ 濃縮液	亢 進 的	亢 進 的	同 様
OT.	亢 進 的	亢 進 的	同 様
SOT.	亢 進 的	亢 進 的	同 様

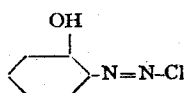
由來舊ツベルクリンの腸管作用に關しては已に先人の研究している處であつて、今之等の文獻を縦覽するに、一方に於ては Koch's Old Tuberculin は健常海狸の腸管たると結核海狸の腸管たるとを問はず同様に輕微の機能亢進を來さしめる處があるとしている C. Schilling u. H. Hackenthal (1924), <sup>15)</sup> S. Maki (1925) <sup>15)</sup> の實驗報告があり、他方には OT. は結核海狸腸管に對し何等收縮を來すことがないとした R. Massini (1916) <sup>16)</sup> の報告、並に T. Kumagai (1914) <sup>14)</sup> の OT. は健常腸管に對し何等機能亢進を來すことがないとした報告、更には無蛋白ツベルクリンを以ての實驗に於て腸管の緊張上昇作用は證明されず寧ろ麻痺的影響が觀察されたとする S. Maki (1925)

の研究があると云ふ具合に舊 ツベルクリンの腸管作用に關しての先人の業績は必ずしも一致して居らず、而も麻痺的であると云ひ緊張上昇的であると云ふも其の程度は極めて輕微なものを觀察しているに過ぎないのである。

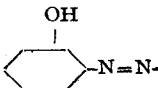
叙上余の OT. 並に SOT. を以ての實驗では何れも結核海猿腸管たると健常海猿腸管たるの如何を問はず輕度の機能亢進を來すと云ふ結果が得られて居るのであるが、然し之と同様の影響が亦單に「Glycerinbouillon  $\frac{1}{40}$  濃縮液」によつても惹起せられていることから見て、OT. 或は SOT. による腸管の機能亢進——尤も之が果して何に原因するかは、培養液自體の組成の複雑性に鑑みて全く不明と云ふの外はないが——は少くとも ツベルクリン活性因子によるものでないと斷じ得ると存する次第である。

茲に至つて O.A.-Azo-T. が腸管に對し結核海猿のものたると健常海猿のものたるとを問はず、同様に相當強い（麻痺作用惹起の限界濃度=1:100,000）麻痺的影響を呈すると云ふ事實は極めて重視すべきことであつて、此の結果から吾々は少くとも O.A.-Azo-T. には Histamine 等の腸管緊張上昇物質の混在がないことを推想し得る譯である。

然し O.A.-Azo-T. ではツベルクリン活性因子に於ける Histidine 並に Tyrosine 等に對し



による azo- 化が行はれて居るのであるから、O.A.-Azo-T. の腸管に對する

麻痺性具有の原因が其の分子に於けるツベルクリン蛋白側に由來するものか或は  基の存在に原因しているものであるかに就ては勿論不明と云ふの外はない譯である。

尙余の結核海猿腸管に對し O.A.-Azo-T. を作用せしめた實驗に於て、所謂 Schultz-Dale- 現象<sup>16)</sup>と見做すべきものは些も觀察されず、此の場合結核海猿腸管には健常海猿腸管に於て起ると全く同様の機能低下の現象が起るに過ぎないと云ふ事實は、彼の結核個體を對象としたツベルクリン皮膚反應試験に於て伊藤・越村兩助教授並に柿下教授等が O.A.-Azo-T. が強大なアレルギー効果を呈することを實證した事に對應せしめて極めて興味あることであると存する次第である。

#### G. 家兎血壓並に呼吸に及ぼす影響

體重 2~3kg. の家兎(♂)を選び兩側迷走神經の切斷、及び氣管一並に靜脈カニューレの挿入等の諸處置を行つてから、型の如く呼吸並に血壓の變化狀況を煤紙上に描記せしめた。而して O.A.-Azo-T. は 1% 食鹽水溶液とし、此の 1~2cc. (即ち 10~20mg.) を直接外頸靜脈に挿入せるカニューレ内に注射作用せしめた。

O.A.-Azo-T. の 1% 溶液 1~2cc. (0.01~0.02g.) の靜脈内注射によつて、呼吸運動及び血壓には殆ど何等の異變をも示さなかつた。

因に OT. \*\*\*\* 並に SOT. の “1:100” 液 1cc. 注射の實驗でも何等の變化も認められなかつた。

\*\*\*\*= Califano<sup>17)</sup> は OT. 5cc の靜脈内注射によつて家兎に輕微の一過性血壓上昇を見たを報告して居り、Smith が所謂 Tuberculo-protein を以ての實驗では、少量注射の場合には健常家兎たると結核家兎たるとを問はず同様に輕度の一過性血壓上昇が見られ、30mg. 以上では徐々に血壓の下降が見られるが、此の場合に於ても動物が結核たると正常たるとを問はず作用關係には大なる差異がないと云ふ成績である。

## 結 論

o-Aminophenol Azo-Tuberculin Derivative の一般薬理學的性狀に關する實驗を行ひ次の結果が得られた。

- 1) Paramecium に對する O.A.-Azo-T. の毒性は Phenol のそれよりも 僅かに強い處がある。
- 2) O.A.-Azo-T. は強い溶血性を有し、其の人、家兎並に海猿赤血球に對する溶血限界濃度は 1:20,000~1:50,000 である。

3) O.A.-Azo-T. の maus (體重 16~19g.) に對する最少致死量 (腹腔内注射) は大體 5mg. である。

而して O.A.-Azo-T. では其の maus に對する毒作用の發現が極めて徐々 (Delayed effect) であることが觀取せられた。

4) O.A.-Azo-T. は冷血動物 (蛙) 並に溫血動物 (健常並に實驗的結核海猿) の血管に對しては何等顯著な作用性を有しない。

5) O.A.-Azo-T. の摘出蛙心に對する作用は麻痺的であるが其の程度は極めて微弱なものである。

6) 健常海猿腸管は O.A.-Azo-T. によつて相當顯著な麻痺的影響を蒙り、其の作用限界濃度は大體 1:100,000 であつた。而して實驗的結核海猿の腸管も亦 O.A.-Azo-T. に對しては健常海猿腸管のそれに於けると全く同様の反應態度を示し、此の間に Schultz-Dale 反應現出の兆は些も之を立證することは出来なかつた。

7) O.A.-Azo-T. 10~20mg. の靜脈内注射に際し家兎の呼吸運動並に血壓曲線には全然何等の變化をも來すことがなかつた。

8) 尙考査上の便宜に資すべく Koch's Old Tuberculin 及び Sauton's Synthetic-Medium Old Tuberculin を以て薬理學的研究を行つた成績に就ても記述する處があつた。

(本研究の遂行に當つては學術研究會議結核研究特別委員會の研究費の補助を受けたことを感謝す。岡本肇)

## 引 用 書 目

- 1) a) H. Okamoto: Experimental studies in Chemotherapy of tuberculosis. Part I., Annual Report of the Research Institute of Tuberculosis, Kanazawa Medical University, Vol. 4, 1946; Part II., Ibid., 6, 1948.
- b) 岡本及び共同研究者: 結核化學療法の基礎的研究, 1~XX 報. 金澤醫科大學結核研究所年報, 2 卷, 1944.~6 卷, 1948.
- c) 岡本: 化學療法とホルモン療法, 1 卷, 8 號, 297 頁, 昭和23年.
- d) 岡本, 相良, 藤田: 基礎と臨床, 3 卷, 4 號, 107 頁, 昭和24年.
- 2) Ito, R., and Koshimura, S.: Experimental study on the influence of azo-tuberculin upon guinea-pigs infected with tubercle bacilli. (Preliminary report)  
Japan. Med. J., 1948. (印刷中)
- 3) Ito, R., and Koshimura, S.: Experimental study on the influence of azo-tuberculin upon guinea-pigs infected with tubercle bacilli. Part II. Isolation of the o-aminophenol azo-tuberculin derivative

from "Sauton's synthetic Medium Old Tuberculin."

Japan. Med. J., 1949. (印刷中)

- 4) 柿下, 由利 : o-Aminophenol Azo-Tuberculin と Old Tuberculin の人體に於ける皮膚反應に關する比較實驗. 第24回日本結核病學會並に第22回日本細菌學會記事, 昭和24年.
- 5) 伊藤, 其の他 :
  - a) 十全醫學會雜誌, 51卷, 481號, 136頁, 昭和23年, 第1回十全醫學會記事.
  - b) 日本臨床結核, 8卷, 344頁, 昭和24年.
  - c) 日本藥理學雜誌, 44卷, 3號, 昭和24年. 第22回日本藥理學會記事, 昭和24年.
- 6) Ito, R., Koshimura, S., and Fujita, S. : On the hemolytic action of o-aminophenol azo-protein derivatives. Japan. Med. J., 1948. (印刷中)  
第2回日本藥劑師協會學術大會記事, 昭和24年.
- 7) M. I. Smith : Amer. Rev. Tuberc., 32, 98, 1935.
- 8) U. Rabbiosi : Beitr. Klin. Tuberk., 71, 229, 1929.
- 9) E. Friedberger u. S. Seidenberg : Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 51, 276, 1927.
- 10) R. Bieling : Centralb. f. Bakt. Orig. 93, 56, 1924..
- 11) A. M. Preobraschenski : Zeitschr. ges. exp. Med., 45, 452, 1925.
- 12) a) 岩佐, 河端 : 結核 8卷, 540頁, 昭和5年.  
b) 岩佐 : 結核, 5卷, 969頁, 昭和2年.
- 13) S. Maki : Zeitschr. ges. exp. Med., 44, 143, 1925.
- 14) T. Kumagai : Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 22, 338, 1914.
- 15) C. Schilling u. H. Hackenthal : Z. Hyg. u. Infekt.-krht., 102, 417, 1924; Ibid., 103, 435, 1924.
- 16) R. Massini : Zeitschr. f. Immunitätsforsch., 25, 179, 1916.
- 17) L. Califano : Zeitschr. ges. exp. Med., 45, 452, 1925.
- 18) a) W. H. Schultz : J. Pharm. and exp. Therap., 1, 549, 1910.; Ibid., 2, 221, 1910-1911.  
b) H. H. Dale : Ibid., 4, 167, 1912-1913.